

Über die Wirkung von Isoprenalin
auf Kontraktionskraft und c-AMP-Spiegel
an Meerschweinchenvorhöfen in Abhängigkeit
von Einwirkzeit und Konzentration

Claudia Dönges

1980



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552623_0097

Aus dem Pharmakologischen Institut der
Johannes Gutenberg-Universität
Mainz

ÜBER DIE WIRKUNG VON ISOPRENALIN AUF
KONTRAKTIONSKRAFT UND c-AMP-SPIEGEL
AN MEERSCHWEINCHENVORHÖFEN IN ABHÄNGIG-
KEIT VON EINWIRKZEIT UND KONZENTRATION

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Würde des Doktors der Medizin der
Johannes Gutenberg-Universität in Mainz
dem Fachbereich Medizin vorgelegt

von

CLAUDIA DÖNGES

aus

WÜRZBURG

Mainz, 1980



Dekan	:	Prof. Dr. H. Leithoff
1. Gutachter	:	Prof. Dr. H. Scholz
2. Gutachter	:	Prof. Dr. T. Meinertz

Tag der mündlichen Prüfung: **13. JUNI 1980**

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

KG	: Körpergewicht
FG	: Feuchtgewicht
kg , g , mg	: Kilogramm, Gramm, Milligramm
l , ml, μ l	: Liter, Milliliter, Mikroliter
M , mM, pM	: molar (=Mol/l), millimolar, picomolar; in Verbindung mit Gewichtsangaben Mol, Millimol, Picomol
min, sec, msec	: Minute, Sekunde, Millisekunde
mm	: Millimeter
Hz	: Hertz (Impulse/Sekunde)
Ci	: Curie
$^{\circ}$ C	: Grad Celsius
i.p.	: intraperitoneal
c-AMP	: zyklisches Adenosin - 3',5'-monophosphat

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	1
2. Methode	5
2.1. Präparate, Badlösung, Mechanogramme	5
2.2. Versuchsanordnung	6
2.3. c-AMP-Bestimmung	7
2.4. Substanzen	10
2.5. Prüfung der erfolgreichen Entleerung der Katecholaminspeicher durch die Resorpin- vorbehandlung	11
2.6. Statistische Auswertung	11
3. Ergebnisse	13
3.1. Wirkung von Isoprenalin auf die Kontrak- tionskraft	13
3.2. Wirkung von Isoprenalin auf die Kontrak- tionskraft und den c-AMP-Gehalt	14
3.3. Wirkung von Isoprenalin auf c-AMP-Gehalt und Kontraktionskraft nach Blockade der adrenergen Betarezeptoren	19
3.4. Zeitverlauf der Wirkung von Isoprenalin auf Kraft und c-AMP-Gehalt	21
3.5. Zeitverlauf der Wirkung von Isoprenalin (10^{-8} M) auf Kontraktionskraft und c-AMP-Gehalt während 60 Minuten	25
3.6. Einfluß von Papaverin auf die Wirkung von Isoprenalin auf Kontraktionskraft und c-AMP-Gehalt der Präparate	27
4. Diskussion	29
4.1. Konzentrationswirkungsbeziehung von Iso- prenalin	29
4.2. Isoprenalinwirkung nach Blockade der adrener- gen Betarezeptoren	33

4.3. Isoprenalinwirkung nach kurzen Einwirkzeiten	34
4.4. Isoprenalinwirkung nach längeren Einwirkzeiten	35
4.5. Isoprenalinwirkung ($10^{-8}M$) nach längeren Einwirkzeiten	36
4.6. Isoprenalinwirkung nach Vorbehandlung mit Papaverin	37
5. Zusammenfassung	40
6. Literaturverzeichnis	42

Lebenslauf

1. EINLEITUNG

Rall und Sutherland (1958) konnten zeigen, daß auch am Herzen die Bildung von c-AMP durch Adrenalin katalysiert wird. Sie sprachen die Vermutung aus, daß dieses Nukleotid eine entscheidende Rolle bei der Regulation des Stoffwechsels und der Funktion des Herzmuskels spielen könnte. In der Folgezeit haben zahlreiche Arbeiten diese Vermutung bestätigt und Hinweise dafür gebracht, daß der positiv inotrope Effekt sympathomimetischer Amine durch c-AMP vermittelt sein könnte (Übersichten bei Katz und Repke, 1973; Entman, 1974; Tsien, 1977; Drummond und Severson, 1979). Die Hypothese, daß der positiv inotrope Effekt sympathomimetischer Amine tatsächlich durch eine Vermittlung von c-AMP zustande kommen sollte, stützt sich auf folgende Versuchsergebnisse:

- a) Adenylzyklase aus Herzmuskelzellpräparationen wird durch Katecholamine aktiviert (Murad et al., 1962; weitere Literatur o.g. Übersichten).
- b) Gewebespiegel von c-AMP werden am intakten Herzen durch Katecholamine gesteigert (Robison et al., 1965; Drummond et al., 1966; weitere Literatur o.g. Übersichten).
- c) Der positiv inotrope Effekt von Katecholaminen wird durch Theophyllin gesteigert (Rall und West, 1963; weitere Literatur o.g. Übersichten).

d) c-AMP selbst bzw. dessen lipophile Derivate können den positiv inotropen Effekt der Katecholamine nachahmen (Kukovetz und Pösch, 1970; Skelton et al., 1970; Meinertz et al., 1973; weitere Literatur o.g. Übersichten).

Weiterhin wurde in mehreren Arbeiten untersucht, ob Katecholamine nicht nur zu einer Steigerung des c-AMP-Gehaltes des Herzmuskels führen, sondern ob diese Steigerung auch zeitlich dem positiv inotropen Effekt der Katecholamine vorausgeht. Verschiedene Autoren konnten nachweisen, daß der durch Adrenalin bewirkte Anstieg des c-AMP-Spiegels tatsächlich eher erfolgt, als die durch diese Substanz hervorgerufene Steigerung der Kontraktionskraft (Cheung und Williamson, 1965; Robison et al., 1965; weitere Literatur siehe oben). Zahlreiche andere den c-AMP-Gehalt des Herzens erhöhende positiv inotrope Substanzen (z.B. Isoproterenol, Papaverin, Theophyllin, Glukagon) wurden in den letzten Jahren in verschiedenen Versuchsanordnungen mit dieser Fragestellung untersucht (Drummond et al., 1966; LaRaia et al., 1968; Namm et al., 1968; Kukovetz und Pösch, 1972; Drummond und Hemmings, 1973; Kukovetz et al., 1973; McNeill und Verma, 1973; Watanabe und Besch, 1974; Schümann et al., 1975; Osnes und Øye, 1976). Insgesamt gesehen zeigen auch diese Arbeiten, daß die Steigerung

des c-AMP-Gehaltes des Herzmuskels auch bei diesen Substanzen dem positiv inotropen Effekt vorangeht.

Trotz der genannten zahlreichen Arbeiten zu dieser Fragestellung blieben eine ganze Reihe von wichtigen Punkten offen. Diese beziehen sich insbesondere auf die quantitative Beziehung zwischen Änderungen von c-AMP-Spiegel und Änderungen der Kontraktionskraft in Abhängigkeit von der Agonisteneinwirkzeit und in Abhängigkeit von der Agonistenkonzentration. Am Beispiel des Beta-Sympathomimetikums Isoprenalin sollten diese Fragen in einer übersichtlichen und hinsichtlich aller Parameter gut kontrollierbaren Versuchsanordnung studiert werden. Dabei waren folgende Punkte von besonderem Interesse:

- 1) Isoprenalin steigert die Kontraktionskraft und den c-AMP-Gehalt der Präparate. Wie verhalten sich die Konzentrationswirkungskurven für beide Parameter?
- 2) Wie verhalten sich c-AMP-Spiegel und Kontraktionskraft in Abhängigkeit von der Einwirkzeit von Isoprenalin? Bleibt der c-AMP-Spiegel während einer längeren Einwirkzeit von Isoprenalin erhöht oder kommt es zu einer Wiederabnahme des c-AMP-Spiegels trotz Anwesenheit des Agonisten?

Alle Versuche wurden an Präparaten reserpinisierter Tiere durchgeführt, um eine Interferenz endogener Katecholamine beim Zustandekommen der Substanzeinwirkungen ausschließen zu können.

2. METHODE

2.1. Präparate, Badlösung, Mechanogramme

Die Versuche wurden an isolierten, elektrisch gereizten linken Vorhöfen von Meerschweinchen (250-450 g) beiderlei Geschlechts durchgeführt. Die Tiere wurden bei handelsüblichem Trockenfutter (Altromin^R) und Leitungswasser ad libitum gehalten. Zur Entleerung der Katecholaminspeicher wurden sie 16 - 18 Stunden vor Versuchsbeginn mit Reserpin 1x5 mg/kg KG (Serpasil^R Ampullen Ciba) vorbehandelt.

Die Tiere wurden durch Genickschlag getötet, aus den Carotiden entblutet und die Herzen möglichst schnell excidiert. Die linken Vorhöfe wurden in begaster Tyrodelösung (Zusammensetzung s. unten) bei Raumtemperatur präpariert. Die Präparate wurden an Seidenfäden befestigt und zwischen zwei Platinreizelektroden aufgehängt und in Tyrodelösung enthaltenden Organbädern suspendiert.

Die Tyrodelösung setzte sich bei allen Versuchen folgendermaßen zusammen (mM): NaCl 136,9; KCl 5,4; MgCl₂ 1,05; CaCl₂ 1,8; NaH₂PO₄ 0,42; NaHCO₃ 11,9; Glukose 5,5 und Ascorbinsäure 50 mg/l.

Alle Lösungen wurden ununterbrochen mit Carbogen (95% O₂ und 5% CO₂) begast (pH 7,4), und die Temperatur bei 35°C konstant gehalten.

Die entwickelte Kontraktionskraft wurde über einen

Dehnungsmeßstreifen (Grass Ft 03) auf Direktschreibern (Hellige) bei einem Papiervorschub von 0,1 mm/sec registriert. Die Vorhöfe wurden mit 1 g belastet und elektrisch mit Rechteckimpulsen von 5 msec Dauer und einer Reizfrequenz von 3 Hz gereizt (Grass Reizgerät S 6), wobei die angelegte Spannung etwa 10% über der Reizschwellenspannung lag.

2.2. Versuchsanordnung

Die Präparate wurden mindestens 30 Minuten lang in 40 ml Tyrodelösung äquilibriert und anschließend für festgesetzte Zeiten mit bestimmten Pharmaka inkubiert. Zu diesem Zweck wurden entweder 10 ml einer vorbegasteten und vorgewärmten Pharmakon-Tyrodelösung zu den im Organbad enthaltenen 40 ml gegeben oder den 50 ml im Organbad maximal bis zu 0,5 ml einer Pharmakon-Tyrodelösung zugesetzt. Am Ende der Versuchszeit wurden die Präparate schnell aus dem Bad genommen, zwischen zwei Filterpapieren abgetupft und mittels einer in flüssigem Stickstoff vorgekühlten 'Wollenberger Zange' tiefgefroren, wobei die Zeit zwischen Entnahme aus den Organbädern und Einfrieren nicht länger als 3-6 Sekunden betrug. Die Präparate wurden bis zur Bestimmung des c-AMP-Gehaltes in flüssigem Stickstoff belassen.

Kontraktionskraft und c-AMP-Gehalt von mit pharmakonfreier Tyrodelösung behandelten Präparaten ('Kontrollpräparate') wurden nach einer Äquilibrierungszeit von 30 Minuten gemessen. Bei allen Versuchsgruppen waren immer 2 Kontrollen eingeschlossen. Die Bestimmung des c-AMP-Gehaltes und die Messung der Kontraktionskraft wurden bei allen Versuchen jeweils am gleichen Präparat vorgenommen.

2.3. c-AMP-Bestimmung

Die gefrorenen Präparate wurden schnell (innerhalb 60 sec) auf einer Waage (Sartorius) gewogen (die Feuchtgewichte betrugen $44,5 \text{ mg} \pm 0,68$; $N=212$) und in Teflongefäße überführt, die mit flüssigem Stickstoff vorgekühlt waren und 1 ml eisgekühlte Trichloressigsäure enthielten. Die Proben wurden durch 60 Sekunden langes Schütteln bei 50 Hz in einem Mikrodismembrator (Braun Melsungen) unter Verwendung einer ebenfalls in flüssigem Stickstoff vorgekühlten Wolfram-Carbid-Kugel (Gewicht 8 g, Durchmesser 10 mm) zu einem homogenen Pulver zerkleinert. Die pulverisierte Probe wurde durch 30-minütiges Stehenlassen bei Raumtemperatur in der Teflon-Kapsel aufgetaut und anschließend zweimal 3 Minuten in einer Eppendorf Zentrifuge bei 10 000 xg zentrifugiert. Aus dem klaren Überstand wurden jeweils 2 Proben zu 0,1 ml entnommen und mit 10 μ l einer 1 N HCL

angesäuert. Zur Beseitigung der Trichloressigsäure wurde dreimal mit 1 ml Diäthyläther extrahiert und anschließend die Proben zur Entfernung des restlichen Äthers 15 Minuten auf 56°C erhitzt. Über Nacht wurden die Proben gefriergetrocknet. Der c-AMP-Gehalt jeder Probe wurde durch Doppelbestimmung nach der Proteinbindungsmethode nach Gilman (1970) mit gereinigtem Bindungsprotein aus Ochsendiaphragma in einem totalen Volumen von 200 µl bei einer Verdünnung von 1:100 bzw. 1:200 gemessen. Die Verdünnung kam wie folgt zustande: Aus 1000 µl klarem Überstand des Zentrifugats wurden 100 µl zur Weiterverarbeitung entnommen. Der Rückstand der Gefrierdrying wurde in 500 µl bzw. 1 ml aqua bidest. aufgenommen und von dieser Lösung 50 µl zur Messung eingesetzt. Die Kalibrierung erfolgte mit 0,5 Picomol cyclischem ^3H -AMP und 0,1-5 Picomol nicht radioaktivem cyclischem AMP. Sie wurde bei jeder Versuchsgruppe erneut durchgeführt. Unter diesen Bedingungen war keine Beeinflussung der Proteinbindung durch andere Substanzen (Pharmaka, Pufferlösungen, Proteine, Säuren etc.) zu entdecken. Die durchschnittliche Recovery von zugesetzten 10 Picomol nicht radioaktivem c-AMP zu 1000 µl Trichloressigsäure betrug $9,51 \pm 0,40$, (N=38).

Eine Korrektur der Wiederfindung entfiel deshalb.
Der c-AMP-Gehalt wurde in pM pro mg Feuchtgewicht
berechnet. Der erhaltene Wert aus jedem einzelnen
Präparat ist das Mittel zweier Extraktionen mit je
zwei Bestimmungen.

2.4. Substanzen

Die benutzten Pharmaka waren;

($\frac{+}{-}$) - Isoprenalin HCL (Boehringer Ingelheim)

Papaverin HCL (Boehringer Ingelheim) und

($\frac{+}{-}$) - Propanolol HCL (Rheinpharma)

2.5. Prüfung der erfolgreichen Entleerung der Katecholaminspeicher durch die Reserpinvorbehandlung

Entsprechend Lindmar und Muscholl (1964, 1965) wurde der Noradrenalingehalt der Versuchsherzen fluorimetrisch getestet. Durch Vorbehandlung der Tiere mit Reserpin fiel der Gehalt der Präparate an endogenem Noradrenalin von $1741 \pm 58,2$ (4 Kontrollpräparate) auf $13,7 \pm 3,4$ (N=8) $\mu\text{g/g}$ FG ab.

Des weiteren wurde bei mehreren Versuchsserien festgestellt, daß Tyramin ($2,9 \times 10^{-5}\text{M}$) in den isolierten rechten Vorhöfen der Herzen, deren linke Vorhöfe für die c-AMP-Bestimmung verwendet wurden, nicht mehr positiv inotrop wirkte. c-AMP- und Tyraminwirkung wurden an getrennten Teilen des Herzens untersucht, um eine Störung des zu untersuchenden c-AMP-Spiegels durch Tyramin zu vermeiden. Es zeigte sich jedoch in gelegentlichen Versuchen mit isolierten linken Herzvorhöfen reserpinisierter Meerschweinchen, daß Tyramin hier ebenfalls keine positiv inotrope Wirkung besaß .

2.6. Statistische Auswertung

Für jede Versuchsserie wurde das arithmetische Mittel ($\bar{x}$) und der zugehörige Standardfehler des Mittelwertes ($s_{\bar{x}}$) aus den jeweiligen Einzelwerten (N) berechnet. Um die Unterschiede zwischen den Mittelwerten

auf Signifikanz zu prüfen, wurde der t-Test verwendet. P-Werte, die über 0,05 lagen, wurden als nicht signifikant angesehen.

3. ERGEBNISSE

In der ersten Versuchsserie wurden c-AMP-Gehalt und Kontraktionskraft der Präparate während einer 30 min Versuchsperiode in Tyrodelösung bestimmt. Die Versuche wurden jeweils an Präparaten nicht vorbehandelter und reserpinvorbehandelter Tiere durchgeführt. Die Bestimmung des c-AMP-Gehaltes und die Auswertung der Kontraktionskraft erfolgte zu drei verschiedenen Zeitpunkten (0 min, 15 min, 30 min) nachdem die Präparate zuvor 30 min in Tyrodelösung äquilibriert worden waren. Beide Meßgrößen blieben innerhalb der Versuchsperiode praktisch konstant und zeigten nur eine geringe Tendenz zur Abnahme. Alle weiteren Versuche wurden an Präparaten reserpinvorbehandelter Tiere durchgeführt. Durch Verwendung solcher Präparate sollte ausgeschlossen werden, daß eine Freisetzung endogener Katecholamine am Zustandekommen der im folgenden beschriebenen Substanzeffekte beteiligt sein könnte.

3.1. Wirkung von Isoprenalin auf die Kontraktionskraft

Es wurde die Wirkung von Isoprenalin (10^{-10} - 10^{-6} M) auf die Kontraktionskraft des Meerschweinchenvorhofes geprüft. Alle Konzentrationen wurden am gleichen Präparat getestet. Zwischen den einzelnen Substanzeffekten wurde dreimal mit Tyrodelösung gespült. Das Ergebnis

dieser Versuche ist in Abbildung 1 dargestellt. Die wichtigste Information dieser Abbildung ist, daß die positiv inotrope Wirkung von Isoprenalin bei einer Konzentration von 10^{-9}M begann, bei 10^{-8}M etwa halbmaximal und zwischen 10^{-7}M und 10^{-6}M maximal war. Daher erschien es sinnvoll, die Wirkung von Isoprenalin auf den c-AMP-Gehalt der Präparate im Konzentrationsbereich zwischen 10^{-10}M und 10^{-6}M zu untersuchen.

3.2. Die Wirkung von Isoprenalin auf die Kontraktionskraft und den c-AMP-Gehalt

In dieser Versuchsserie wurde für jede Isoprenalin-konzentration ein neues Präparat verwandt. Kontraktionskraft und c-AMP-Gehalt wurden jeweils am gleichen Präparat bestimmt. Das Ergebnis dieser Versuche zeigt Abbildung 2. Im linken Teil der Abbildung (A) ist der Effekt von Isoprenalin auf die Kontraktionskraft, im rechten Teil der Abbildung (B) auf den c-AMP-Gehalt derselben Präparate dargestellt. Der positiv inotrope Effekt von Isoprenalin begann hier bei einer Konzentration von 10^{-9}M , war zwischen 10^{-8}M und $3 \times 10^{-8}\text{M}$ halbmaximal und zwischen 10^{-7}M und 10^{-6}M maximal. Graphisch läßt sich eine Isoprenalin-konzentration von $1,8 \times 10^{-8}\text{M}$ für den halbmaximalen (68% Kraftzunahme) positiv inotropen Effekt der Substanz ermitteln.

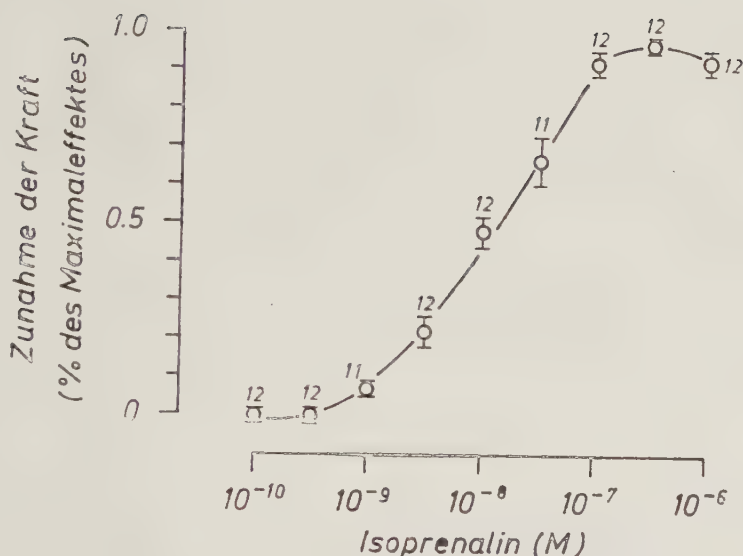


Abb.1:

Wirkung von Isoprenalin (10^{-10} - 10^{-6} M) auf die Kontraktionskraft isolierter, elektrisch gereizter linker Vorhöfe von reserpinvorbehandelten Meerschweinchen. Ordinate: Zunahme der Kraft in Prozent des Maximaleffektes. (Der Maximaleffekt wurde gleich 1 gesetzt). Die Substanzeffekte wurden im Maximum ausgewertet. Abszisse: IsoprenalinKonzentration in M. Alle Konzentrationen wurden am gleichen Präparat geprüft (N=12). Zwischen den einzelnen Substanzeffekten wurde dreimal mit Tyrodelösung gespült (Spüldauer 15 Minuten).

Der Maximaleffekt war bei einer IsoprenalinKonzentration von 3×10^{-7} erreicht und betrug $668 \pm 89\%$ (N=12). Die Ausgangskraft der Präparate vor Substanzgabe betrug $12,1 \pm 5,03$ g/g FG (N=12).

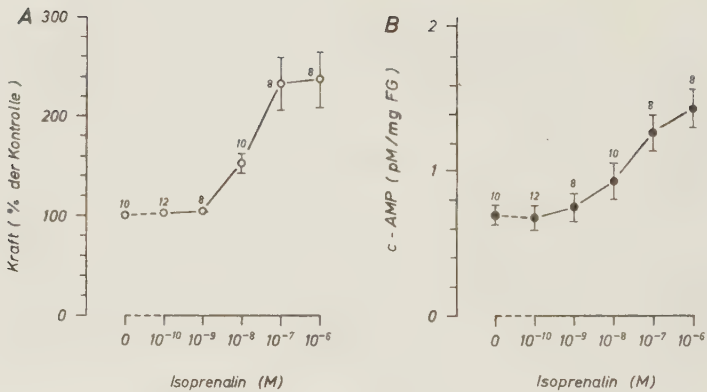


Abb.2:

Wirkung von Isoprenalin (10^{-10} - 10^{-6} M) auf Kontraktionskraft (A) und c-AMP-Gehalt (B) isolierter, elektrisch gereizter linker Vorhöfe von reserpinvorbehandelten Meeresschweinchen.

Ordinate A: Kraft in % der Kontrolle

Ordinate B: c-AMP in pM/mg FG

Abszisse: Isoprenalinkonzentration (M)

Die verschiedenen Isoprenalinkonzentrationen wurden an verschiedenen Präparaten geprüft, Einwirkzeit von Isoprenalin 60 Sekunden. Kraft und c-AMP-Gehalt wurden an jeweils gleichen Präparaten gemessen.

Zahlen neben den Symbolen = Anzahl der Präparate

Kontrollwert bei A: $17,2 \pm 1,4$ g/g FG (N=46)

Kontrollwert bei B: $0,69 \pm 0,07$ pM/mg FG (N=10)

Wie bei der Kraft beginnt auch die Wirkung des Isoprenalins auf den c-AMP-Gehalt der Präparate bei einer Konzentration von 10^{-9}M . Der halbmaximale Isoprenalineffekt lag auch hier zwischen 10^{-8}M und $3 \times 10^{-8}\text{M}$. Die maximale Steigerung des c-AMP-Gehaltes durch Isoprenalin ist bei einer Konzentration von 10^{-6}M erreicht. Der c-AMP-Gehalt der Präparate unter Kontrollbedingungen lag bei $0,69 \pm 0,07 \text{ pM/mg FG}$ ($N=10$) und erreicht in Anwesenheit von 10^{-6}M Isoprenalin $1,42 \pm 0,13 \text{ pM/mg FG}$ ($N=8$). Eine halbmaximale Steigerung des c-AMP-Gehaltes erfolgte (graphisch ermittelt) bei einer Konzentration von $1,8 \times 10^{-8}\text{M}$ Isoprenalin. Dieser Wert entspricht genau dem für die halbmaximal positiv inotrope IsoprenalinKonzentration ermittelten Wert.

In Abbildung 3 ist die IsoprenalinKonzentrationswirkungsbeziehung für die Kontraktionskraft und den c-AMP-Gehalt der Präparate in normalisierter Form dargestellt. Es liegen die in Abbildung 2 gezeigten Meßwerte für beide Parameter zugrunde. Aus der Abbildung geht hervor, daß sich die Veränderungen von Kraft und c-AMP-Gehalt der Präparate durch Isoprenalin durch eine gemeinsame Konzentrationswirkungsbeziehung beschreiben lassen.

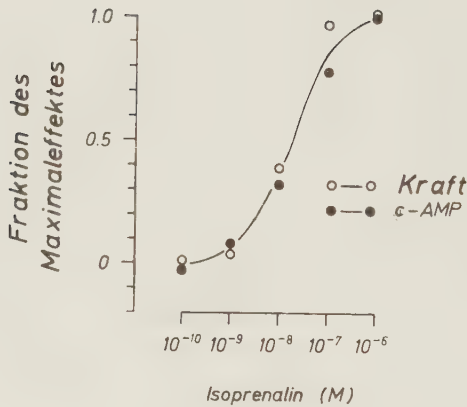


Abb. 3:

Wirkung von Isoprenalin (10^{-10} - 10^{-6} M) auf c-AMP und Kontraktionskraft isolierter linker Vorhöfe reserpinisierter Meerschweinchen.

Normalisierte Darstellung (Maximaleffekt = 1) der in Abbildung 2 gezeigten Konzentrationswirkungskurven.

Ordinate: Effekt als Fraktion des Maximaleffektes

Abszisse: Isoprenalinkonzentration in mM

Die Kontrollwerte für Kontraktionskraft und c-AMP-Gehalt der Präparate entsprechen den in der Legende zu Abb. 2 angegebenen Werten.

3.3. Wirkung von Isoprenalin auf c-AMP-Gehalt und Kontraktionskraft nach Blockade der adrenergen Betarezeptoren

Es wurde der Einfluß von Propanolol auf den positiv inotropen und c-AMP-steigernden Effekt des Isoprenalins untersucht. Das Ergebnis dieser Versuche ist in Abbildung 4 dargestellt. In Abwesenheit von Propanolol führte 10^{-6} M Isoprenalin zu einer deutlichen Steigerung des c-AMP-Gehaltes (A) und der Kontraktionskraft (B) der Präparate. Propanolol selbst hat keinen Einfluß auf den c-AMP-Gehalt und die Kontraktionskraft. Die Säulenhöhen in Abbildung 4 entsprechen hier den Säulenhöhen unter Kontrollbedingungen. Nach 15 min Vorbehandlung mit 10^{-7} M Propanolol kam es in Anwesenheit dieser Propanololkonzentration zu einer deutlichen Veränderung des Isoprenalin-effektes (rechte Säulen in Abbildung 4). Unter diesen Bedingungen fehlte die Steigerung des c-AMP-Gehaltes durch Isoprenalin und auch die Kraftzunahme zeigte eine deutliche Abschwächung.

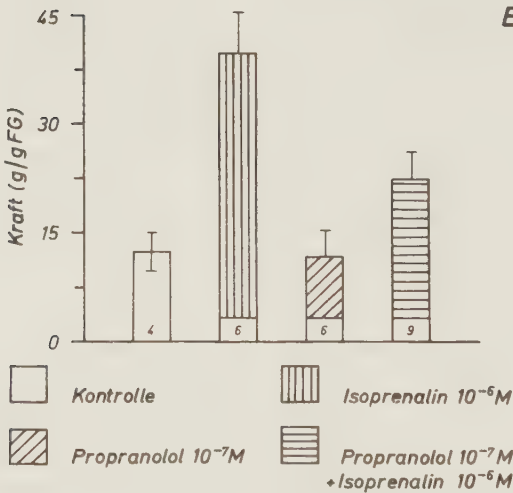
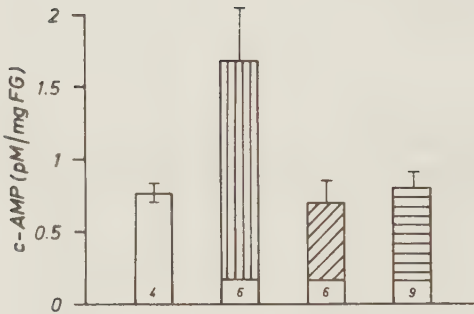


Abb. 4:

Wirkung von Isoprenalin auf c-AMP-Gehalt (A) und Kontraktionskraft (B) isolierter, elektrisch gereizter linker Vorhöfe von reserpinvorbehandelten Meerschweinchen in Ab- und Anwesenheit von Propranolol.

Die Säulen repräsentieren (von links nach rechts) die Kontrollgruppe, die für 30 Minuten mit Propranolol ($10^{-7} M$) behandelte Gruppe und die nach 30 Minuten Propranololvorbehandlung mit Isoprenalin ($10^{-6} M$, Einwirkzeit 30 Sekunden) behandelte Gruppe.

Der c-AMP-Gehalt ist in pM/mg FG und die Kraft in g/g FG angegeben. Kraft und c-AMP-Gehalt wurden in gleichen Präparaten geprüft. Die Anzahl der Präparate ist an der Basis der Säulen angegeben.

3.4. Zeitverlauf der Wirkung von Isoprenalin auf Kraft und c-AMP-Gehalt

Kontraktionskraft und c-AMP-Gehalt der Präparate wurde unter Kontrollbedingungen und nach unterschiedlichen Einwirkzeiten von 10^{-6} M Isoprenalin bestimmt. Beide Größen wurden jeweils am gleichen Präparat gemessen. Abbildung 5 zeigt das Ergebnis dieser Versuchsserie, im oberen Teil (A) die Veränderung der Kraft, und im unteren Teil (B) die Veränderung des c-AMP-Gehaltes. Die Originalregistrierung in Abbildung 6 soll den Zeitverlauf der Kraft innerhalb der ersten Minute der Isoprenalineinwirkung verdeutlichen. Aus der Originalregistrierung geht hervor, daß es unter den hier gewählten Bedingungen (10 ml Isoprenalinstantumlösung wurden zu 40 ml Tyrodelösung innerhalb einer Sekunde zugegeben) schon 5 sec nach Substanzzugabe zu einem Anstieg der Kontraktionskraft kommt, der nach 30 sec sein Maximum erreicht. Bis zur 45. sec bleibt die Kontraktionskraft praktisch konstant und nimmt bis zur 60. sec geringfügig wieder ab. Die in Abbildung 5 (A) dargestellten Mittelwerte von mehreren Versuchspräparaten zeigen noch einmal den typischen Verlauf der Kraft-Zeitwirkungskurve von Isoprenalin. Man sieht hier, daß sich die Tendenz zur Wiederabnahme der Kontraktionskraft bis zur 5. Minute weiter fortsetzt. Im unteren Teil der Abbildung (B) ist der an gleichen Präparaten gemessene c-AMP-Gehalt dargestellt. Es fällt auf,

daß schon 15 sec nach Isoprenalingabe eine maximale Zunahme des c-AMP-Gehaltes erreicht ist. Diese Zunahme bleibt bis zur 30. sec praktisch unverändert und ist nach 60 und 300 sec geringer, aber noch deutlich ausgeprägt.

In dieser Versuchsserie wurde weiterhin geprüft, wie sich c-AMP-Gehalt und Kontraktionskraft der Präparate nach einer längeren Einwirkzeit von Isoprenalin verhalten. Kontraktionskraft und c-AMP-Gehalt der Präparate wurden unter Kontrollbedingungen und längerer (15 min, 30 min, 60 min) Einwirkzeit von Isoprenalin bestimmt. Das Ergebnis dieser Versuche ist ebenfalls in Abbildung 5 dargestellt. Aus Abbildung 5 A geht hervor, daß die Kontraktionskraft im Anschluß an den Wiederabfall zwischen der 30. sec und 5. min bis zur 15. min konstant bleibt. Danach kommt es - trotz weiterer Anwesenheit von Isoprenalin - zu einem weiteren deutlichen Abfall der Kontraktionskraft bis zur 60. min. Betrachtet man den Verlauf des c-AMP-Gehaltes (5 B) der unter den gleichen Bedingungen an den gleichen Präparaten gefunden wurde, so fällt auch hier eine zeitabhängige Abnahme des c-AMP-Gehaltes auf. Sie ist besonders nach 60-minütiger Einwirkzeit von Isoprenalin ausgeprägt und entspricht in ihrem Ausmaß dem Abfall der Kontraktionskraft zu diesem Zeitpunkt.

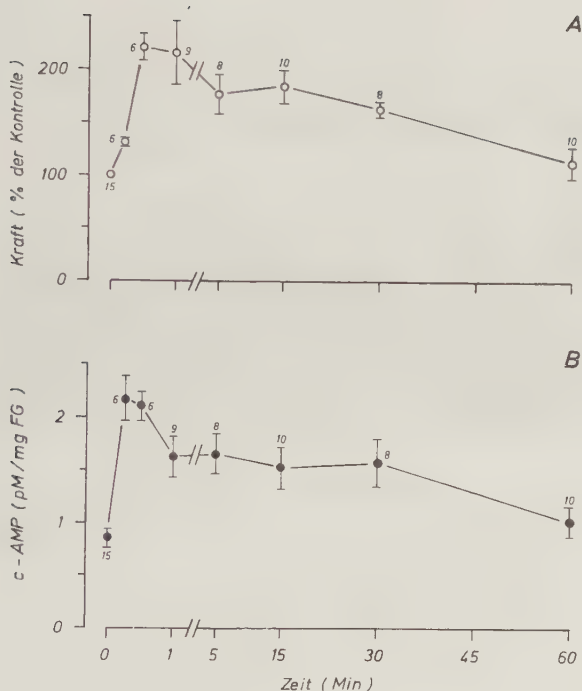


Abb. 5:

Wirkung von Isoprenalin (10^{-6} M) auf Kraft (A) und c-AMP-Gehalt (B) von isolierten, elektrisch gereizten linken Vorhöfen von reserpinvorbehandelten Meerschweinchen in Abhängigkeit von der Zeit.

Ordinate A: Kraft in % der Kontrolle

Ordinate B: c-AMP-Gehalt in pM/mg FG

Abzissen: Zeit nach Zugabe von Isoprenalin in Minuten

Zahlen neben den Symbolen = Anzahl der Präparate

Kontrollwert bei A: $17,8 \pm 1,0$ g/g FG (N=57)

Kontrollwert bei B: $0,86 \pm 0,69$ pM/mg FG (N=15)

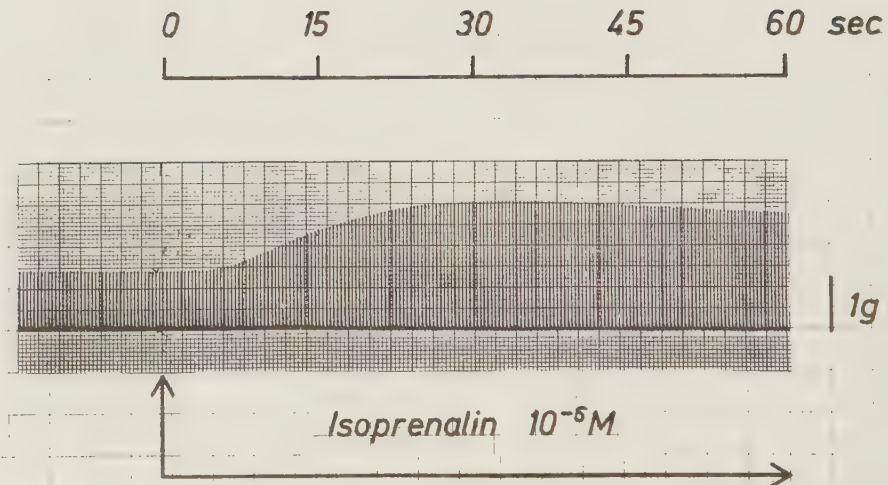


Abb.6:

Zeitlicher Verlauf der positiv inotropen Wirkung von Isoprenalin ($10^{-6}M$; Zugabe zum Zeitpunkt 0) bei einem isolierten, elektrisch gereizten linken Vorhof eines mit Reserpin vorbehandelten Meerschweinchens. Über dem Mechanogrammausschnitt ist die Einwirkzeit von Isoprenalin in Sekunden angegeben.

3.5. Zeitverlauf der Wirkung von Isoprenalin (10^{-8} M)
auf Kontraktionskraft und c-AMP-Gehalt während
60 Minuten

In dieser Versuchsserie sollte die Wirkung einer geringeren (10^{-8} M im Vergleich zu 10^{-6} M) Isoprenalin-konzentration auf den c-AMP-Gehalt und die Kontraktionskraft der Präparate geprüft werden. Das Ergebnis dieser Versuche ist in Abbildung 7 dargestellt. Die Versuchsanordnung ist die gleiche wie in der zuvor geschilderten Versuchsserie.

Kontraktionskraft und c-AMP-Gehalt wurden jeweils am gleichen Präparat unter Kontrollbedingungen und in Anwesenheit von 10^{-8} M Isoprenalin zum Zeitpunkt 1 min, 30 min und 60 min nach Substanzapplikation bestimmt.

Aus Abbildung 7 A geht hervor, daß es durch 10^{-8} M Isoprenalin zu einer Steigerung der Kontraktionskraft der Präparate kam, die nach 1 Minute ihr Maximum erreicht hatte. Dieselbe Steigerung der Kontraktionskraft war auch 30 und 60 min nach Substanzzugabe noch vorhanden. Abbildung 7 B zeigt den unter gleichen Bedingungen an gleichen Präparaten gemessenen c-AMP-Gehalt. Auch hier kam es wie bei der Kraft nach 1 Minute zu einem Anstieg der aber nach 30 Minuten und 60 Minuten unverändert vorhanden war, also keine Tendenz zur Wiederabnahme zeigte.

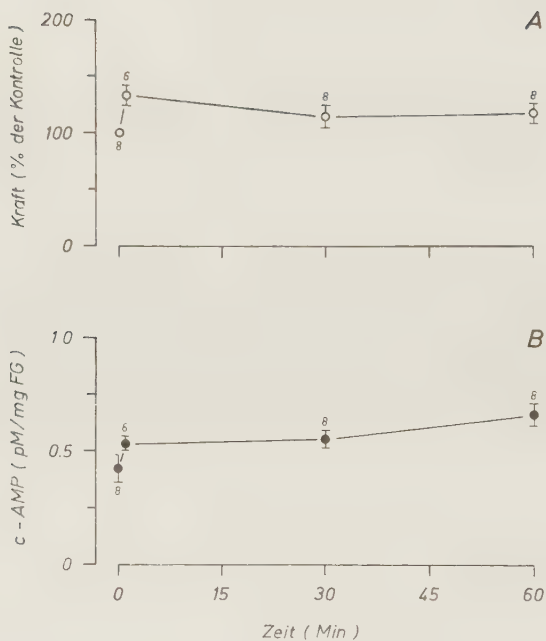


Abb.7:

Wirkung von Isoprenalin (10^{-8} M) auf Kraft (A) und c-AMP-Gehalt von isolierten, elektrisch gereizten linken Vorhöfen von reserpinvorbehandelten Meerschweinchen in Abhängigkeit von der Zeit.

Ordinate A : Kraft in % der Kontrolle

Ordinate B : c-AMP-Gehalt in pM/mg FG

Abszissen : Zeit nach Zugabe von Isoprenalin in Minuten

Zahlen neben den Symbolen = Anzahl der Präparate

Kontrolle bei A : $17,9 \pm 1,85$ g/g FG (N=22)

Kontrolle bei B : $0,42 \pm 0,06$ pM/mg FG (N=8)

3.6. Einfluß von Papaverin auf die Wirkung von Isoprenalin auf Kontraktionskraft und c-AMP-Gehalt der Präparate

In dieser Versuchsserie wurde untersucht, wie eine Vorbehandlung der Präparate mit Papaverin den Effekt von Isoprenalin auf Kontraktionskraft und c-AMP-Gehalt des Meerschweinchenvorhofes beeinflußt. Die Präparate wurden 15 min mit Papaverin vorbehandelt, das auch während der Isoprenalinwirkung in dieser Konzentration anwesend war. Papaverin allein führte schon zu einem Anstieg der Kontraktionskraft. Nach Zugabe von Isoprenalin ($10^{-6}M$) kommt es an den papaverinvorbehandelten Präparaten zu einem Anstieg der Kraft. Nach 30 und 60 Minuten kommt es jedoch zu keinem Wiederabfall der Kontraktionskraft. Das Ergebnis dieser Versuche ist in Abbildung 8 dargestellt.

Der an den gleichen Präparaten gemessene c-AMP-Spiegel zeigt folgendes Verhalten: Nach 1 Minute kommt es zu einer deutlichen Steigerung des c-AMP-Gehaltes um das Zweibis Dreifache vor Isoprenalinzugabe. Nach 30 Minuten hat der c-AMP-Spiegel weiter zugenommen und zeigt auch nach 60 Minuten noch eine Erhöhung, die nur gering unter der des Maximaleffektes bei 30 Minuten liegt.

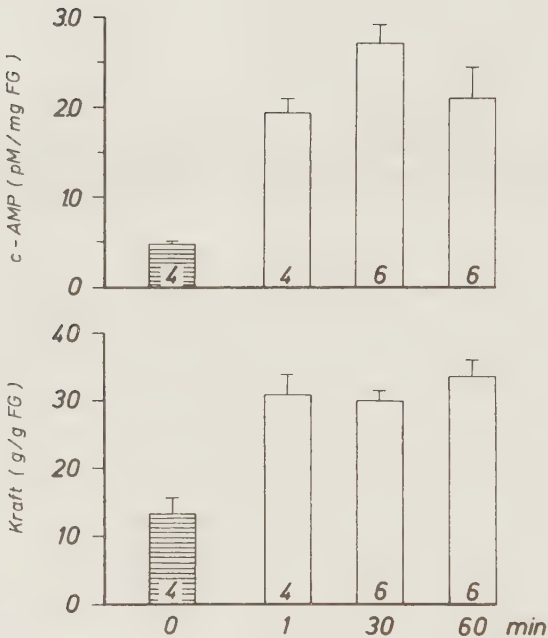


Abb. 8:

Wirkung von Isoprenalin ($10^{-6}M$) auf c-AMP-Gehalt (A) und Kraft (B) von isolierten, elektrisch gereizten linken Vorhöfen von reserpinisierten Meerschweinchen nach Vorbehandlung mit Papaverin ($10^{-5}M$) in Abhängigkeit von der Zeit.

Ordinate A : c-AMP-Gehalt in pM/mg FG

Ordinate B : Kraft in % der Kontrolle

Abszissen : Zeit in Minuten

c-AMP-Gehalt und Kraft wurden unter Kontrollbedingungen (0 Minuten, nach 15 Minuten Einwirkzeit von Papaverin) und nach verschiedenen Einwirkzeiten von Isoprenalin (1, 30 und 60 Minuten) gemessen. Die Anzahl der Präparate ist in den Kurven angegeben.

Kontrollwerte bei A: $0,68 \pm 0,20$ pM/mg FG (N=4)

Kontrollwerte bei B: $18,7 \pm 1,6$ g/g FG (N=20)

4. DISKUSSION

4.1. Konzentrationswirkungsbeziehung von Isoprenalin

Es ist mehrfach gezeigt worden, daß Isoprenalin den c-AMP-Gehalt des Warmblüterherzens steigert (LaRaia et al., 1968; Øye und Langslet, 1972; Kukovetz et al., 1973; Osnes und Øye, 1975). Insbesondere die Autoren der beiden letztgenannten Arbeiten befassen sich mit der Wirkung von verschiedenen Isoprenalinkonzentrationen auf c-AMP-Gehalt und Kontraktionskraft des Warmblüterherzens.

Kukovetz et al. (1973) konnten zeigen, daß Isoprenalin Kontraktionskraft und c-AMP-Gehalt des Meerschweinchenherzens steigert. Diese Versuche wurden an spontan schlagenden (d.h. nicht elektrisch gereizten), isoliert perfundierten Herzen unter Verwendung von Isoprenalin (0,5 - 500 µg; als Bolusinjektion) durchgeführt. Die Kontraktionskraft des Herzens wurde isotonisch registriert. Isoprenalin steigerte den c-AMP-Gehalt dieser Herzpräparate in Konzentrationen ab 0,5 µg, während die Kontraktionskraft ab 20 µg zunahm. Die Maximaleffekte für Kontraktionskraft und c-AMP-Gehalt waren bei 500 µg erreicht. Versuchsmethodische Unterschiede machen einen direkten Vergleich dieser Ergebnisse mit den hier gewonnenen unmöglich. Die Präparate schlugen spontan, d.h. durch Isoprenalin bewirkte Änderungen der Kontraktionsfrequenz, die sekundär nicht

nur die Kontraktionskraft, sondern auch den c-AMP-Gehalt der Präparate beeinflussen können, wurden nicht ausgeschlossen. Bei isotonischer Registrierung werden Inotropieänderungen weniger vollständig erfaßt als bei isometrischer Registrierung. Dies mag unter anderem eine Erklärung dafür sein, daß der Dosisbereich des positiv inotropen Effektes von Isoprenalin ($20 \mu\text{g}$ - $500 \mu\text{g}$) ungewöhnlich klein ist. Der wichtigste Unterschied zu der von uns gewählten Versuchsanordnung aber besteht darin, daß diese Autoren Isoprenalin als Bolusinjektion applizierten und nicht mit kontinuierlicher Perfusion. Bei einer Bolusinjektion können momentan sehr hohe Substanzkonzentrationen den Herzmuskel erreichen, ohne daß am Rezeptor jeweils eine konstante (d.h. auch definierte) Substanzkonzentration vorhanden ist. Auf Grund dieser Versuche läßt sich also nicht entscheiden, ob tatsächlich eine Dissoziation ($0,5 - 20 \mu\text{g}$) zwischen c-AMP-Gehalt und Kontraktionskraft am Fußpunkt der Dosiswirkungskurve vorliegt. Andererseits sollte man auf Grund der oben dargelegten methodischen Bedenken auch die von Kukovetz et al. (1973) beschriebene Ähnlichkeit der Isoprenalin-Konzentrationswirkungskurve für Kraft und c-AMP nicht überbewerten.

Einige der kritischen Anmerkungen zur Versuchsanordnung von Kukovetz et al. (1973) treffen auch auf die von Osnes und Øye (1975) verwandte Versuchsanordnung zu. Auch diese Autoren verwenden das spontan schlagende, isoliert perfundierte Herz (Rattenherz). Zur Applikation von Isoprenalin verwenden diese Autoren sowohl die Bolustechnik als auch die Perfusion mit einer Lösung mit bekannter Isoprenalinkonzentration. Als Maß für die Kontraktionskraftänderung des Herzens registrieren diese Autoren die Änderung der Aorten-Amplitude. Sie betonen selbst, daß dieser Parameter kein exaktes quantitatives Maß für die Erfassung des Kontraktionszustandes des Herzens darstellt. Die Autoren kommen zu dem Ergebnis, daß Isoprenalin (10^{-9} - 10^{-7} M) konzentrationsabhängig den c-AMP-Gehalt des Rattenherzens steigert. Eine Konzentrationswirkungsbeziehung für die Kontraktionskraft wird nicht dargestellt. Vergleicht man die hier vorgelegten Ergebnisse mit den oben ausführlich diskutierten Befunden der Literatur, so wird folgendes deutlich: In der vorliegenden Arbeit wurde - zum ersten Mal - der praktisch identische Verlauf der Konzentrationswirkungskurven von Isoprenalin für die Kontraktionskraft und den c-AMP-Gehalt am Warmblüterherzen beschrieben. Dieses Ergebnis scheint aus folgendem Grund von besonderem Interesse zu sein :

Vergleiche zwischen der durch (-) - Isoprenalin stimulierten Kontraktionsfrequenz und -kraft und der Stimulation der Adenylzyklase von 10000 xg-Membranpartikeln des Katzenventrikels durch diese Substanz hatten folgendes ergeben: Während der positiv inotrope und positiv chronotrope Effekt von (-) - Isoprenalin bei einer Konzentration von 10^{-9} M halbmaximal war, wurde eine halbmaximale Stimulation der Adenylzyklase erst bei einer Konzentration von 10^{-7} M (-) - Isoprenalin erreicht (Blinks, 1967; Kaumann, 1972). Dieser Befund wurde von Birnbaumer et al. (1974) als eine Dissoziation zwischen der durch Isoprenalin bewirkten physiologischen Wirkung (positive Inotropie und Chronotropie) und dem durch Isoprenalin bewirkten c-AMP-Anstieg gedeutet. Die hier vorgelegten Befunde lassen eine andere Interpretation dieser Ergebnisse zu. Am intakten Herzen scheint nämlich diese Dissoziation zwischen der Isoprenalin induzierten positiven Inotropie und der c-AMP-Steigerung nicht zu bestehen. Es wäre daher durchaus möglich, daß eine Aktivierung der Adenylzyklase isolierter Herzstrukturen nicht mit der in intakten Herzmuskelpräparaten ablaufenden Aktivierung zu vergleichen ist, weil nur hier das intakte Betarezeptor-Adenylatzyklase-System vorhanden ist. Die Ergebnisse der oben erwähnten Versuche, die teils

an intakten Präparaten und teils an Membranpartikeln durchgeführt wurden, können demnach nicht als echte "Dissoziation" angesehen werden.

4.2. Isoprenalinwirkung nach Blockade der adrenergen Betarezeptoren

Am isoliert perfundierten Meerschweinchenherzen konnten Kukovetz et al. (1973) zeigen, daß eine Blockade der adrenergen Betarezeptoren durch die Substanz Kö 592 (Doberol^R, Boehringer Ingelheim) die Wirkung von Isoprenalin auf Kontraktionskraft und c-AMP-Gehalt ihrer Präparate hemmte, d.h. unter diesen Bedingungen führte Isoprenalin zu keiner Kontraktionskraftzunahme und zu keiner Erhöhung des c-AMP-Gehaltes. In ähnlicher Weise konnten Watanabe und Besch (1974) am durch Kalium depolarisierten Meerschweinchenherzen zeigen, daß auch hier eine Blockade der adrenergen Betarezeptoren zu einer Hemmung des Isoprenalinearbeitseffektes führte : Nach Vorbehandlung der Präparate mit 3×10^{-7} M Propanolol blieb der durch Isoprenalin bewirkte Anstieg des c-AMP-Spiegels, aber auch die Zunahme der Kraft aus. Sowohl die Befunde von Kukovetz et al. (1973) als auch die von Watanabe und Besch (1974) stehen in guter Übereinstimmung mit den hier erhaltenen Ergebnissen. Gemeinsam sprechen die Befunde dafür, daß die durch Isoprenalin bewirkte Zunahme der Kraft und des c-AMP-Gehaltes der

Präparate von der Stimulation der gleichen Betarezeptoren abhängig sind. Weiterhin weist das ähnliche Verhalten beider Parameter auf eine mögliche kausale Verknüpfung beider Parameter beim Zustandekommen des positiv inotropen Isoprenalineffektes hin.

4.3. Isoprenalinwirkung nach kurzen Einwirkzeiten

Wenn c-AMP der Vermittler des positiv inotropen Effektes von Isoprenalin ist, sollte der Anstieg des c-AMP-Spiegels nach Gabe von Isoprenalin dem Anstieg der Kontraktionskraft vorausgehen. Für Adrenalin konnte gezeigt werden, daß der c-AMP-Anstieg dem positiv inotropen Effekt dieser Substanz vorausgeht (Robison et al., 1965; Drummond et al., 1966).

Auch für Isoprenalin wurde nachgewiesen, daß am isolierten perfundierten Herzen des Meerschweinchens (Kukovetz et al., 1973) und der Ratte (Osnes und Øye, 1975) der Anstieg des c-AMP-Spiegels dem Anstieg der Kontraktionskraft vorausgeht. Am Kaninchenpapillarmuskel wurde gefunden, daß hier ebenfalls der Anstieg des c-AMP-Spiegels eher erfolgt als der Anstieg der Kontraktionskraft (Schümann et al., 1975). Die hier vorgelegten Befunde und die zitierten Befunde der Literatur zeigen also deutlich, daß quantitativ zuerst die Steigerung des c-AMP-Spiegels und danach die der

Kraft nach Isoprenalingabe erfolgt. Dieses Ergebnis ist ebenfalls gut mit der Vorstellung vereinbar, daß Isoprenalin seine kontraktionskraftsteigernde Wirkung durch Vermittlung von c-AMP bewirkt.

4.4. Isoprenalinwirkung nach längeren Einwirkzeiten

Es gibt einige Hinweise dafür, daß nach längerer Einwirkzeit von Isoprenalin am Herzmuskel die Steigerung des c-AMP-Spiegels nicht konstant erhalten bleibt, sondern trotz Anwesenheit des Agonisten der c-AMP-Spiegel wieder absinkt. So beobachteten Schümann et al. (1975) am Kaninchenpapillarmuskel, daß nach 120 sec Einwirkzeit der Maximaleffekt der c-AMP-Steigerung nach 30 sec um fast die Hälfte wieder abgenommen hatte. Auch Kukovetz et al. (1973) beschrieben am isoliert perfundierten Meerschweinchenherzen eine ähnliche Wiederabnahme des Isoprenalineffektes auf den c-AMP-Gehalt. Die Tatsache, daß hier Isoprenalin als Bolusinjektion gegeben wurde, erschwert aber - wie oben ausgeführt - die Interpretation dieser Befunde. Am isolierten perfundierten Rattenherzen fanden Osnes und Øye (1976) bei Bolusinjektion von Isoprenalin eine innerhalb von 60 sec (Maximum etwa bei 20 sec) vollständige Wiederabnahme des c-AMP-Spiegels. Diese Autoren zeigten aber auch, daß in einer Versuchsanordnung mit Perfusion

einer Isoprenalinlösung ($10^{-8}M$) eine Wiederabnahme des c-AMP-Spiegels zu beobachten ist. Es schien interessant zu sein, ob diese anfängliche Wiederabnahme des c-AMP-Spiegels (zwischen 1 und 5 min) sich weiter fortsetzt und ob trotz Anwesenheit des Agonisten wieder Kontrollwerte gefunden werden. Es wurde bei den mit $10^{-6}M$ Isoprenalin durchgeführten Versuchen beobachtet, daß sich diese Wiederabnahme des c-AMP-Spiegels tatsächlich weiter fortsetzt und nach 60 min nur noch etwa 10-20% über dem c-AMP-Spiegel der Kontrollen liegt. Gleichzeitig nahm die Kontraktionskraft in ähnlicher Weise über diesen Zeitraum wieder ab.

4.5. Isoprenalinwirkung ($10^{-8}M$) nach längeren Einwirkzeiten

In dieser Versuchsserie zeigte sich, daß die Wiederabnahme des c-AMP-Spiegels nach längeren Einwirkzeiten der Substanz von der Substanzkonzentration abhängig ist. Bei einer Konzentration von $10^{-8}M$ Isoprenalin wurde jedenfalls keine Wiederabnahme des Isoprenalinearreffektes auf den c-AMP-Spiegel festgestellt. Dieser Befund steht in Übereinstimmung mit einer von Hopkins (1975) beschriebenen Beobachtung, daß $10^{-8}M$ Isoprenalin den c-AMP-Spiegel nach 45 min

ebenso steigerte wie nach 0,3 - 10 min (Versuche am isoliert perfundierten Meerschweinchenherzen).

4.6. Isoprenalinwirkung nach Vorbehandlung mit Papaverin

Wie in der vorgelegten Arbeit am Meerschweinchen-vorhof konnten auch Schümann et al. (1975) am Kaninchenpapillarmuskel zeigen, daß die Anwesenheit von Papaverin die Wirkung von Isoprenalin auf den c-AMP-Spiegel deutlich steigerte. Ebenso wie in der vorgelegten Arbeit zeigten diese Autoren, daß auch die durch Isoprenalin bewirkte Kraftzunahme der Präparate nach Vorbehandlung mit Papaverin deutlich größer war.

In den vorgelegten Versuchen konnte aber darüber hinaus gezeigt werden, daß es an den mit Papaverin vorbehandelten Präparaten zu keiner Wiederabnahme des c-AMP-Spiegels und der Kontraktionskraft innerhalb einer 60-minütigen Einwirkzeit von Isoprenalin kam. Diese Versuche zeigen also, daß die Wiederabnahme des c-AMP-Spiegels und der Kontraktionskraft nicht nur von der Isoprenalinkonzentration, sondern auch von der jeweiligen Aktivität der Phosphodiesterase abhängt. Man könnte sich deshalb vorstellen, daß nach maximaler Stimulation der Betarezeptoren mit 10^{-6} M Isoprenalin ein autoregulatorischer Prozeß in Gang kommt, der zu einer Senkung des c-AMP-Spiegels führt. Die Versuche mit Papaverin deuten darauf hin, daß an dieser möglichen regulatorischen

Senkung des c-AMP-Spiegels die Phosphodiesterase beteiligt sein könnte. Die Hemmung dieses Enzyms durch Papaverin könnte die regulatorische Senkung des c-AMP-Spiegels verhindern.

Die Ergebnisse über den Zeitverlauf der Isoprenalinwirkung sind deshalb besonders interessant, weil die Kontraktionskraft praktisch zu allen Zeiten den Änderungen des c-AMP-Spiegels folgt. Dies weist erneut auf eine enge Verknüpfung von c-AMP-Spiegel und Kontraktionskraft nach Stimulation der Betarezeptoren hin.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß in der vorliegenden Arbeit der praktisch identische Verlauf der Konzentrationswirkungskurven von Isoprenalin für Kontraktionskraft und c-AMP-Spiegel gezeigt werden konnte. Da bei einer Betarezeptoren-Blockade mit Propanolol keine Zunahme der Kontraktionskraft und des c-AMP-Gehaltes bei Isoprenalingabe zu sehen war, kann man annehmen, daß beide Parameter von der Stimulation der gleichen Rezeptoren abhängig sind. Möglicherweise liegt hier eine kausale Verknüpfung von beiden vor.

Da trotz Anwesenheit von Isoprenalin sowohl die Kraft als auch der c-AMP-Spiegel nach längerer Einwirkzeit wieder absinken, dies aber nur bei hoher Substanzkonzentration der Fall ist, liegt die Möglichkeit nahe, daß hier ein autoregulatorischer Mechanismus durch einen

schnelleren c-AMP-Abbau in Frage kommt. Dafür spricht, daß bei Zugabe von Papaverin sowohl der c-AMP-Spiegel als auch die Kontraktionskraft nicht wieder absinken.

5. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluß von Isoprenalin auf den c-AMP-Gehalt und die Kontraktionskraft in Abhängigkeit von der Konzentration und der Einwirkzeit an isolierten linken Meerschweinchenvorhöfen untersucht. Die Vorhöfe wurden mit Rechteckimpulsen von 5 msec Dauer bei einer Reizfrequenz von 3 Hz gereizt, wobei die Versuchstemperatur bei allen Versuchen 35°C betrug. Alle Vorhöfe stammten von mit Reserpin vorbehandelten Tieren.

1) Isoprenalin (10^{-9} - 10^{-6} M) führt am isolierten, elektrisch gereizten linken Vorhof reserpinvorbehandelter Meerschweinchen zu einer konzentrationsabhängigen Steigerung von c-AMP-Gehalt und Kontraktionskraft. Die Konzentrationswirkungskurven von Isoprenalin für beide Parameter sind in einer normalisierten Darstellungsweise praktisch deckungsgleich.

2) Durch Blockade der adrenergen Betarezeptoren (Propanolol 10^{-7} M) läßt sich die durch Isoprenalin bewirkte Steigerung des c-AMP-Gehaltes und der Kontraktionskraft deutlich abschwächen.

3) Die Steigerung des c-AMP-Gehaltes der Präparate durch Isoprenalin (10^{-6} M) geht der Entwicklung der Kontraktionskraftzunahme voraus.

4) Trotz weiterer Anwesenheit von Isoprenalin (10^{-6} M) zeigt sowohl der c-AMP-Gehalt als auch die Kontraktionskraft der Präparate eine deutliche Tendenz zur Wiederabnahme. Diese ist insbesondere nach längeren Einwirkzeiten der Substanz (30 und 60 Minuten) ausgeprägt.

5) In Anwesenheit einer niedrigen Isoprenalinkonzentration (10^{-8} M) fehlt die Wiederabnahme des c-AMP-Gehaltes. Auch die Kontraktionskraft nimmt deutlich geringer wieder ab als bei höheren Isoprenalinkonzentrationen.

6) Nach Vorbehandlung der Präparate mit Papaverin (10^{-5} M) ist die Steigerung des c-AMP-Gehaltes und der Kontraktionskraft durch Isoprenalin (10^{-6} M) deutlich stärker als ohne Vorbehandlung. Hier kommt es zu keiner Wiederabnahme des c-AMP-Gehaltes und der Kontraktionskraft während einer 60-minütigen Einwirkzeit von Isoprenalin.

7) Die Versuche unterstützen die Hypothese, daß die durch Isoprenalin bewirkte Steigerung des c-AMP-Gehaltes und die positiv inotrope Wirkung der Substanz ursächlich miteinander verknüpft sind.

6. LITERATURVERZEICHNIS

Birnbaumer, L., Pohl, St.L., Kaumann, A.J.:

Receptors and acceptors: A necessary distinction in
hormone binding studies

Adv. Cycl. Nucleot. Res. 4 , 239-281 (1974)

Blinks, J.R.:

Evaluation of the cardiac effects of several β -adrenergic
blocking agents

Ann. N.Y. Acad. Sc. 139, 673-685 (1967)

Cheung, W.Y., Williamson, J.H.:

Kinetics of cyclic-adenosine-monophosphate changes in rat
heart following epinephrine administration

Nature 207, 979-981 (1965)

Drummond, G.J., Duncan, L., Hertzman, E.:

Effect of epinephrine on phosphorylase b kinase in perfused
rat hearts

J. Biol. Chem. 241, 5899-5903 (1966)

Drummond, G.J., Hemmings, S.J.:

Role of adenylate cyclase-cyclic AMP in cardiac actions
of adrenergic amines. In: Recent Advances in Studies on
Cardiac Structure and Metabolism, Vol.3, Myocardial Meta-
bolism (N.S. Dhalla, ed.), pp. 213-222. Baltimore:

University Park Press (1973)

Drummond, G.J., Severson, D.L.:

Cyclic nucleotides and cardiac function

Circ. Res. 44, 145-153 (1979)

Entman, M.L.:

The role of cyclic AMP in the modulation of cardiac contractility

Adv. Cycl. Nucleot. Res. 4 , 163-193 (1974)

Gilman, A.G.:

A protein binding assay for adenosine 3',5'-cyclic monophosphate

Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) 67, 305-312 (1970)

Hopkins, S.V.:

Reduction in isoprenaline induced cyclic AMP formation in guinea pig heart after exposure to isoprenaline or salbutamol

Biochem. Pharmacol. 24, 1237-1239 (1975)

Katz, A.M., Repke, D.I.:

Calcium-membrane interactions in the myocardium: Effects of ouabain, epinephrine and 3',5'-cyclic adenosine monophosphate

Circ. Res. 31, 193-201 (1973)

Kaumann, A.J.:

Potentialiation of the effects of isoprenaline and noradrenaline
by hydrocortisone in cat heart muscle

Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol. 273, 134-153 (1972)

Kukovetz, W.R., Pösch, G.:

Cardiostimulatory effects of cyclic 3',5'-adenosine mono-
phosphate and its acylated derivatives

Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol. 266, 236-254 (1970)

Kukovetz, W.R., Pösch, G.:

Inhibition of cyclic 3',5' -nucleotide-phosphodiesterase as
a possible mode of action of papaverine and similarly acting
drugs

Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol. 267, 189-194 (1970)

Kukovetz, W.R., Pösch, G.:

The positive inotropic effect of cyclic AMP

Adv. Cycl. Nucleot. Res. 1, 261-290 (1972)

Kukovetz, W.R., Pösch, G., Wurm, A.:

Effect of catecholamines, histamine and oxyfedrine on iso-
tonic contraction and cyclic AMP in the guinea-pig heart

Naunyn-Schmiedbergs Arch. Pharmacol. 278, 403-424 (1973)

LaRaia, P.J., Craig, R.J., Reddy, W.J.:

Glucagon: Effect on adenosine 3',5'-monophosphate in the rat heart

Amer. J. Physiol. 215, 968-970 (1968)

Lindmar, R., Muscholl, E.:

Die Wirkung von Pharmaka auf die Elimination von Noradrenalin aus der Perfusionsflüssigkeit und die Noradrenalinaufnahme in das isolierte Herz

Naunyn-Schmiedebergs Arch.Pharmacol. 247, 469-492 (1964)

Lindmar, R., Muscholl, E.:

Die Aufnahme von -Methyl-noradrenalin in das isolierte Kaninchenherz und seine Freisetzung durch Reserpin und Guanethidin in vivo

Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol. 249, 529-548 (1965)

McNeill, J., Verma, S.C.:

Phenylephrine - induced increases in cardiac contractility cyclic adenosine monophosphate and phosphorylase

J. Pharmacol. Exp. Ther. 187, 296-299 (1973)

Meinertz, T., Nawrath, H., Scholz, H.:

Dibutyryl cyclic AMP and adrenaline increase contractile force and ⁴⁵Ca uptake in mammalian cardiac muscle

Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol. 277, 107-112 (1973)

Murad, F., Chi, Y.M., Rall, T.W., Sutherland, E.W.:

Effect of catecholamines and cholinesters on the formation of adenosine 3',5' -phosphate by preparations from cardiac muscle and liver

J. Biol. Chem. 237, 1233 (1962)

Namm, D.H., Mayer, S.E., Maltbie, M.:

The role of potassium and calcium ions in the effect of epinephrine on cardiac cyclic adenosine 3',5' -monophosphate, phosphorylase kinase, and phosphorylase

Mol. Pharmacol. 4, 522-530 (1968)

Osnes, J.-B., Øye, I.:

Relationship between cyclic AMP metabolism and inotropic response of perfused rat hearts to phenylephrine and other adrenergic amines

Adv. Cycl. Nucleot. Re. 5, 415-433 (1975)

Osnes, J.-B., Øye, I.:

Adenosine 3',5'-cyclic monophosphate in perfused rat hearts exposed to isoprenaline and dopamine

Acta physiol. scand. 96, 100-113 (1976)

Øye, I., Langslet, A.:

The role of cyclic AMP in the inotropic response to isoprenaline and glucagon

Adv. Cycl. Nucleot. Res. 1, 291-300 (1972)

Rall, T.W., Sutherland, E.W.:

Formation of a cyclic adenine ribonucleotide by tissue particles

J. Biol. Chem. 232, 1065-1076 (1958)

Rall, T.W., West, T.C.:

The potentiation of cardiac inotropic responses to nor-epinephrine by theophylline

J. Pharmacol. Exp. Ther. 139, 269-274 (1963)

Robison, G.A., Butcher, R.W., Øye, I., Sutherland, E.W., Morgan, H.E.:

The effect of epinephrine on adenosine 3',5' -phosphate levels in the isolated perfused rat heart

Mol. Pharmacol. 1, 168-177 (1965)

Schümann, H.J., Endoh, M., Brodde, O.E.:

The time course of the effects of β - and α -adrenoceptor stimulation by isoprenaline and methoxamine on the contractile force and c-AMP level of the isolated rabbit papillary muscle

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 289, 291-302 (1975)

Skelton, C.L., Levey, G.S., Epstein, S.E.:

Positive inotropic effects of dibutyryl cyclic adenosine
3',5' -monophosphate

Circ. Res. 26, 35-43 (1970)

Tsien, R.W.:

Cyclic AMP and contractile activity in heart

Adv. Cycl. Nucleot. Res. 8, 363-420 (1977)

Watanabe, A.M., Besch, H.R.:

Cyclic adenosine monophosphate modulation of slow calcium
influx channels in guinea pig heart

Circ. Res. 35, 316-324 (1974)

Lebenslauf

Am 22.8.1949 wurde ich, Claudia Dönges, geb. Sammet als Tochter des Dipl.-Chem. Prof. Dr. Rolf Sammet und seiner Frau Dr. Barbara Sammet geb. Mokroß in Würzburg geboren. Im Alter von sechs Jahren wurde ich in Augsburg eingeschult und wechselte im Alter von sieben Jahren auf die Grundschule Neuenhain/Ts. um. Ab 1959 besuchte ich das Mädchengymnasium der St. Angela Schule in Königstein/Ts., wo ich am 11.6.1968 mein Abitur bestand.

Im Herbst 1968 begann ich zunächst mit dem Studium der Biologie an der Universität Frankfurt am Main und wechselte nach einem Semester in das Fach Humanmedizin an die Johannes Gutenberg-Universität Mainz über. Im Sommer des Jahres 1975 bestand ich dort mein Staatsexamen.

Nach einer einjährigen Tätigkeit als Medizinalassistentin in der Chirurgie, Inneren und Pharmakologie erhielt ich im Februar 1977 meine Approbation.

Ab Januar 1977 bis April 1978 war ich in der Anästhesie-Abteilung im Kreiskrankenhaus Bad Soden als Assistenzärztin tätig. Anschließend war ich ebenfalls als Assistenzärztin in der gynäkologischen Abteilung des Städt. - Krankenhauses Ffm.-Höchst beschäftigt.

Seit April 1979 arbeite ich in der Klinik für Herz- und Gefäßkrankheiten bei Herrn Prof. Klepzig in Königstein/Ts.

Für die freundliche Unterstützung bei der praktischen Versuchsdurchführung möchte ich Frau Barbara Deckers meinen besonderen Dank aussprechen.

Speziell möchte ich Herrn Prof.Dr.T.Meinertz danken für die Anleitung zu wissenschaftlichem und methodischem Arbeiten sowie für die ständige Bereitschaft zu hilfreicher und weiterführender Diskussion.

